

**STUDI OPTIMASI REGENERASI *IN VITRO* DAN TRANSFORMASI
GENETIK DNA SATELIT GEMINIVIRUS MENGGUNAKAN
Agrobacterium tumefaciens PADA CABAI (*Capsicum annuum* L.)**

Tesis



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
2019**

**STUDI OPTIMASI REGENERASI *IN VITRO* DAN TRANSFORMASI
GENETIK DNA SATELIT GEMINIVIRUS MENGGUNAKAN
Agrobacterium tumefaciens PADA CABAI (*Capsicum annuum* L.)**

**SAIPUL SIHOTANG
1721652003**



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
2019**

**STUDI OPTIMASI REGENERASI *IN VITRO* DAN TRANSFORMASI
GENETIK DNA SATELIT GEMINIVIRUS MENGGUNAKAN
Agrobacterium tumefaciens PADA CABAI (*Capsicum annuum* L.)**

Oleh: Saipul Sihotang (1721652003)

(Dibawah Bimbingan: Prof. Dr. sc agr. Ir. Jamsari, MP dan Prof. Dr. Ir. Irfan
Suliansyah, MS)

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode yang efisien pada regenerasi *in vitro* dan transformasi genetik gen DNA satelit ke dalam genom tanaman cabai. Penelitian ini terdiri dari 4 tahap yakni: 1. Studi regenerasi *in vitro* cabai genotype Lotanbar. 2. Seleksi kalus dengan Kanamicin. 3. Studi Transformasi genetik DNA satelit, 4. Seleksi dan pengujian kalus transforman yang mengandung gen DNA satelit. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif dan eksperimental, data analisis secara statistik menggunakan sidik ragam satu arah dan dilanjutkan dengan uji DNMRT pada taraf $P=0,05$ menggunakan software SPSS 23. Hasil penelitian menunjukkan bahwa: 1. media induksi kalus terbaik yaitu 4,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L IAA dengan kecepatan pembentukan kalus (hari), persentase kalus yang terbentuk, dan rata-rata kalus yang terbentuk yaitu 4,33 hari, 96,67 %, dan 9,67 kalus, 2. Media regenerasi terbaik yaitu 1,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L IAA dengan kecepatan pembentukan tunas (hari), dan persentase tunas yang terbentuk yaitu 12,67 hari dan 42,87 %, 3. Media seleksi kalus terbaik yaitu MIK (media induksi kalus terbaik) + 8,0 mg/L kanamicin dengan persentase kalus yang terbentuk yaitu 5 %, 4. Metode transformasi genetik terbaik yaitu kerapatan bakteri (OD_{600}) 0,5, umur ko-kultivasi 3 hari, waktu inokulasi 15 menit, dan umur eksplan 15 hari kultur dengan efisiensi transformasi yaitu 40 %. Analisis PCR menunjukkan bahwa kalus tersebut merupakan kalus transgenik yang mengandung gen DNA satelit dengan ukuran 1351 bp.

Kata kunci : *in vitro*, DNA satelit, Lotanbar, transformasi genetik, kalus

**STUDY OPTIMIZATION OF *IN VITRO* REGENERATION AND
GENETIC TRANSFORMATION OF GEMINIVIRUS SATELLITE DNA
USING *Agrobacterium tumefaciens* IN CHILI PEPPER (*Capsicum annuum*
L.)**

by: Saipul Sihotang (1721652003)

(Supervised by: Prof. Dr. sc agr. Ir. Jamsari, MP dan Prof. Dr. Ir. Irfan
Suliansyah, MS)

Abstract

This study was aimed to obtain an efficient method in the study of regeneration of *in vitro* and genetic transformation of satellite DNA into genom of the chili pepper. This reasearch was conducted in four phases; 1. Optimization regeneration of *in vitro* chili pepper genotype Lotanbar, 2. Selection of transgenic callus based on kanamycin resistance, 3. Study of genetic transformation of DNA satelite, 4. Selection and analysis callus putative transgenic contained DNA satellite. The research activities were carried out at Laboratory of Biotechnology, Faculty of Agrotechnology, Andalas University. This research used decriptive and experimental methods. One-way ANOVA analysis followed by Duncan's test was used to determine significant differences ($P \leq 0.05$). All statistical analysis were performed using the SPSS Ver. 23 statistical software package. The results showed that; 1. Medium of callus induction is 4,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L IAA with formation of callus (days), percentage of formation callus and average of callus formed, namely 4,33 days, 96,67 % and 9,67 callus, 2. Medium of regeneration callus is 1,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L IAA with formation of shoots (days) and the percentage formation of shoots, namely 12,67 days and 42,87 %, 3. Medium for selection of callus is MCI (medium callus induction) + 8,0 mg/L kanamycin with percentage formation of callus namely 5 %, 4. Condition for genetic transformation method is 0,5 optical density (OD_{600}), co-cultivation 3 days, infection time 15 minutes, and age of culture explants 15 days. Efficient of transformation reached 40 % for above count. PCR analysis succesful indication putative transgenic contained satellite DNA gene with 1.351 bp in size.

Kata kunci : *in vitro*, satellite DNA, Lotanbar, genetic transformation, callus